Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 16, No.3, 2024, p. 401-414

Evaluation of the Chemical Properties and Absorption Capacity of Different Manganese Sources using Everted Gut Sacs Technique and Their Effects on the Performance and Immune Response of Broiler Chickens

Farogh Kargar[1], Hassan Kermanshahi[2*], Ali Javadmanesh[3], Reza Majidzade Heravi[3]

1- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3- Asociate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author's Email: kermansh@um.ac.ir

Received: 17-10-2023 Revised: 25-12-2023 Accepted: 26-12-2023 Available Online: 26-12-2023	**How to cite this article:** Kargar, F., Kermanshahi, H., Javadmanesh, A., & Majidzade Heravi, R. (2024). Evaluation of the chemical properties and absorption capacity of different manganese sources using Everted Gut Sacs technique and their effects on the performance and immune response of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(3), 401-414. (in Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84906.1177

Introduction: Manganese is an essential trace element that acts as an activating component of many crucial enzymes such as alginase and pyruvate carboxylase. It is involved in carbohydrate, lipid, and protein metabolism, as well as in vital biochemical reactions (Hassan et al., 2020). Additionally, manganese serves as a cofactor in the synthesis of chondroitin sulfate and plays a significant role in bone formation in broiler chickens (Mwangi et al., 2019). Moreover, manganese is vital for the antioxidant and immune systems of animals (Patra and Lalhriatpuii, 2020; Wang et al., 2018). In the production of broiler chickens, manganese sources commonly used include inorganic Mn (Mn sulfate, Mn carbonate and Mn oxide) and organic Mn (Mn chelated with amino acid and protein). Inorganic sources of manganese are cheaper, although they have low digestibility (Tufarelli and Laudadio, 2017; Yenice *et al*., 2015). Organic sources have excellent chemical stability and high absorption efficiency. They have not been widely used in poultry diet due to different quality levels of manufactured products, unpredictable effects and high cost (Tufarelli and Laudadio, 2017; Brooks *et al*., 2012). Therefore, it is important to assess new sources of manganese that have higher digestibility and lower cost. Manganese hydroxychloride is a group of minerals which solubility in water is minimal, but it becomes more soluble in acidic conditions in intestine (Wang *et al*., 2011). The purpose of this experiment was to investigate the different levels and sources of manganese in the diet of broiler chickens by investigating their effects on growth performance, immunity, the digestibility of different sources in different solvents, and the digestibility using the technique of Everted Gut Sacs.

Materials and Methods: Manganese sulfate, organic manganese, and manganese Hydroxychloride were obtained from Ariana company. In order to measurement of the amount of dry matter and ash, one gram in four repetitions was sampled from each of the sources. They were dried at 105˚C for 12 hours and dry matter was calculated through subtraction. Then samples were transferred to the oven at 550˚C for 16 hours and their ash content was determined. Finally, they were digested in hydrochloric acid and passed through Whatman filter paper No. 42. After making up to volume with mili-Q water, they were read by an atomic absorption device at a wavelength of 520 to 560 nm (AOAC, 1995; Williams, 1972). In order to evaluate the solubility, three samples (0.1 g) were prepared and dissolved in 100 ml

http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84906.1177

of 2% citric acid, 0.4% hydrochloric acid and deionized water (Watson *et al*., 1970). For assessment ability to absorb minerals by the technique of Everted Gut Sacs, 180 one-day-old broilers of the Ross 308 commercial strain were fed from one to twenty-one days old with corn and soybean based (2018). On the 22nd day to the 28th day, they were fed with a diet free of manganese and on 29th day, they were starved for one day and night. Chickens were grouped into three treatments with Hydroxychloride, organic and manganese sulfate sources with 6 replications and 10 pieces per replication. Three parts were selected from each replication for the test steps (Feng *et al*., 2006). Samples prepared from jejunum and ileum in two buffers, Mis-Krebs and Tris-Krebs. In order to determine the relative bioavailability of different manganese sources, an experiment was conducted with 12 treatments included four different levels of manganese (35, 70, 105 and 140 mg/kg) with three different sources including Hydroxychloride, organic and sulfate.

Results and Discussion: The highest amount of dry matter of manganese was related to manganese sulfate (99.23%). The lowest was manganese hydroxychloride (92.58%). The highest ash percentage was related to manganese hydroxychloride with 86.14% and the lowest was related to organic manganese with 21.56%. The amount of manganese calculated after testing organic sources, hydroxychloride and sulfate was 5.64, 34.64 and 34.47% respectively. The organic form of manganese had the highest solubility in 2% citric acid and the lowest in deionized water with 96.12 and 34.14%, respectively. Manganese hydroxychloride also had the highest solubility in 2% citric acid solution. Manganese sulfate had the highest solubility in hydrochloric acid and the lowest solubility in deionized water. In general, manganese sulfate had the highest solubility in deionized water compared to the other two sources. Also, the highest solubility of organic manganese in 2% citric acid was 96.12% in the whole experiment. It has been reported in studies that binding minerals with proteins will be a weak chelate and when they are placed in solvents, their chelate breaks easily and dissolve (Cao *et al*., 2000). The results related to performance traits and primary and secondary response of antibody titer against sheep red blood cells (SRBC) showed that experimental treatments had no significant effect on them.

Conclusion: The results showed that the highest solubility of the organic form of manganese was in citric acid (96.12%) and the lowest was in deionized water (34.13%). Manganese hydroxychloride had the highest solubility in 2% citric acid, while manganese sulfate had the highest solubility in 0.4% hydrochloric acid. Overall, manganese exhibited the highest solubility in hydrochloric acid and the lowest in deionized water. The results of the technique of inverted intestinal segments showed that the most absorption of manganese occurs in the ileum, and these results were in line with the results of other researchers who had performed this experiment *in vitro* and *in vivo* Among the experimental treatments, the highest absorption in the technique of inverted intestinal segments was related to the organic source of manganese, and the lowest was related to the form of sulfate, 3.25% and 1.99%, respectively. At the end, the use of organic manganese in broiler diet is recommended due to its high absorption level.

Keywords: Bioavailability, Broiler chicken, Everted Gut Sacs, Organic manganese, Performance traits

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۴۱۴-۴۰۱

ارزیابی خصوصیات شیمیایی و قابلیت جذب منابع مختلف منگنز با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

فاروق کارگر[۱]، حسن کرمانشاهی[۲]*، علی جوادمنش[۳]، رضا مجیدزاده هروی[۳]

تاریخ دریافت:۱۴۰۲/۰۷/۲۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴
تاریخ پذیرش:۱۴۰۲/۱۰/۰۵

چکیده

آزمایشی با هدف تخمین زیست‌فراهمی و ارزیابی خصوصیات شیمیایی منابع آلی و معدنی منگنز شامل منگنز آلی، هیدروکسی کلراید منگنز و سولفات منگنز در جوجه‌های گوشتی با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده اجرا شد. در ابتدا، به‌منظور ارزیابی حلالیت و خصوصیات شیمیایی منابع منگنز در حلال‌های مختلف، از هرکدام از نمونه‌ها ۰/۱ گرم با سه تکرار نمونه‌برداری شد. در ادامه به‌منظور تعیین قابلیت جذب منابع منگنز از تکنیک قطعات وارونه روده استفاده شد. به این منظور، از جوجه خروس‌های ۲۹ روزه که به‌مدت یک هفته (۲۹-۲۳روزگی) از جیره فاقد مکمل منگنز تغذیه شده بودند، استفاده شد و بعد از کشتار از ژژنوم و ایلئوم آن‌ها نمونه‌برداری شد. در ادامه، به‌منظور بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر صفات عملکردی و ایمنی جوجه‌های گوشتی از ۶۰۰ قطعه جوجه خروس راس ۳۰۸ در ۱۲ تیمار شامل چهار سطح (۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سه منبع (هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات) منگنز استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین حلالیت را منگنز آلی در سیتریک اسید ۲ درصد (۹۶/۱۲ درصد) داشت و کمترین حلالیت منابع منگنز در آب دیونیزه بود. منبع هیدروکسی کلراید بیشترین حلالیت خود را در سیتریک اسید دو درصد با ۸۳/۰۲ درصد نشان داد. همچنین، بیشترین ابقای منگنز در ایلئوم (۳/۲۵ درصد) بود. منگنز آلی با ۳/۲۵ درصد به‌طور معنی‌داری قابلیت جذب بالاتری نسبت به منابع سولفات (۱/۹۹ درصد) و هیدروکسی کلراید (۲/۳۰ درصد) داشت. منابع منگنز اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی نداشتند. ضریب تبدیل غذایی در سن ۲۳-۱۱ روزگی در تیمار دارای ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منبع هیدروکسی کلراید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در خصوص ایمنی، تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر پاسخ اولیه و ثانویه نداشتند. بنابراین، استفاده از منگنز آلی به‌دلیل ارزش جذب بالاتر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تکنیک قطعات وارونه روده، جوجه گوشتی، زیست‌فراهمی، صفات عملکردی، منگنز آلی

مقدمه

منگنز به‌عنوان یک عنصر کمیاب ضروری، به‌عنوان کوآنزیم یا در ساختار بسیاری از آنزیم‌های ضروری مانند آرژیناز، پیروات کربوکسیلاز، هیدرولازها و غیره است که در متابولیسم کربوهیدرات، لیپید و پروتئین و بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی حیاتی نقش دارد (Hassan *et al*., 2020 Spears, 2019). همچنین، یک کوفاکتور ضروری در سنتز کوندریوتین سولفات است که ارتباط نزدیکی با استخوان‌سازی جوجه‌های گوشتی دارد (Mwangi *et al*., 2019). از سویی دیگر، منگنز نقش حیاتی در سیستم آنتی‌اکسیدانی و ایمنی حیوانات دارد (Wang *et al*., Patra and Lalhriatpuii, 2020 2018; Pan *et al*., 2018). میزان مصرف منگنز توسط شورای تحقیقات ملی (NRC,1994) در جیره جوجه‌های گوشتی حداقل ۶۰

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: Kermansh@um.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84906.1177

میلی‌گرم بر کیلوگرم توصیه می‌شود. با این حال، محتوای منگنز فقط در حدود ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره غذایی می‌باشد که عمدتاً از ذرت و کنجاله سویا تأمین می‌شود و میزان منگنز در دسترس و قابل ابقای آن بسیار پایین است (Halpin *et al*., 1986). به‌منظور تأمین نیاز منگنز در پرورش جوجه‌های گوشتی، معمولاً افزودنی‌های منابع منگنز به جیره جوجه‌های گوشتی اضافه می‌شود. در حال حاضر، منابع منگنز که معمولاً در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده می‌شود، شامل منگنز معدنی (مانند سولفات منگنز، کربنات منگنز و اکسید منگنز) و منگنز آلی (مانند منگنز کلات شده با اسید آمینه و پروتئین) است. منابع غیر آلی منگنز قابلیت هضم نسبتاً پایینی دارند، اگرچه ارزان‌تر هستند (Yenice *et al*., 2015; Tufarelli and Laudadio, 2017). منابع آلی منگنز پایداری شیمیایی مناسب و راندمان جذب بالایی از خود نشان داده‌اند، امّا به‌دلیل کیفیت‌های مختلف محصولات تولیدی، اثرات غیر قابل پیش‌بینی و گران قیمت بودن، به‌طور گسترده در تولید استفاده نشده‌اند (Wang *et al*., 2012; Tufarelli and Laudadio, 2017; Brooks *et al*., 2012). بنابراین، توسعه منابع جدید منگنز با قابلیت هضم بهتر و هزینه نسبتاً کم بسیار مهم است. هیدروکسی کلرید منگنز (MHC)، همچنین به‌عنوان کلرید منگنز پایه یا کلرید منگنز سه ظرفیتی شناخته می‌شود، یک دسته از مواد معدنی هیدروکسی است. حلالیت آن در آب حداقل است، امّا در شرایط اسیدی در روده محلول‌تر می‌شود (Wang *et al*., 2011). هیدروکسی کلراید منگنز حاوی پیوندهای کووالانسی قوی است که شبیه به مواد معدنی آلی است و ساختار کریستالی خاصی دارد که ممکن است برای ثبات در جیره غذایی و جذب بهتر در روده مفید باشد. هیدروکسی کلراید منگنز به‌عنوان یک افزودنی خوراک توسط سازمان ایمنی غذای اروپا (EFSA, 2016) تأیید شده است. مطالعات قبلی نشان داد که هیدروکسی کلراید منگنز می‌تواند سطح زرده و منگنز پوسته تخم مرغ‌های مرغ‌های تخم‌گذار را افزایش دهد و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشد (Jasek *et al*., 2019; *al*., 2020 Jasek *et*). در مطالعه‌ای که روی خوک‌ها انجام شد، همچنین نشان داده شده است که گنجاندن هیدروکسی کلراید منگنز در جیره غذایی باعث بهبود سرعت رشد و مصرف خوراک در مقایسه با سولفات منگنز می‌شود (Kerkaert *et al*., 2020). با این حال، اطلاعات محدودی در مورد سطح افزودن مناسب هیدروکسی کلراید منگنز و منگنز آلی در جوجه‌های گوشتی وجود دارد و اثر نسبی آن در مقایسه با منگنز غیرآلی گزارش نشده است. بنابراین، هدف اصلی این مطالعه، بررسی قابلیت هضم با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و همچنین بررسی منابع و سطوح مناسب منگنز در جیره جوجه‌های گوشتی با بررسی اثرات آن‌ها بر عملکرد رشد و ایمنی، قابلیت هضم منابع مختلف در حلال‌های متفاوت بود.

مواد و روش‌ها

کلیه مراحل انجام این مطالعه در مزرعه تحقیقاتی و مجموعه آزمایشگاه‌های دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

تعیین ترکیبات شیمیایی و حلالیت منابع مختلف منگنز استفاده شده در آزمایش

منابع منگنز مورد استفاده در این آزمایش شامل سولفات منگنز، منگنز آلی و هیدروکسی کلراید منگنز بود که از شرکت دانش بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا تهیه گردید.

تعیین ترکیبات شیمیایی

به‌منظور اندازه‌گیری مقدار ماده خشک و خاکستر، از هرکدام از منابع مورد استفاده یک گرم در چهار تکرار نمونه‌برداری شد و سپس در ابتدا در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۲ ساعت خشک گردید و میزان ماده خشک از تفاضل اعداد به‌دست آمده محاسبه گردید. و سپس نمونه‌ها به داخل کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۶ ساعت منتقل شد و میزان خاکستر آن‌ها نیز تعیین گردید و در انتها به‌منظور اندازه‌گیری مقدار منگنز نمونه‌ها در هیدروکلریک اسید حل شدند و از کاغذ صافی بدون خاکستر واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد، بعد از رساندن به حجم با آب مقطر دو بار تقطیر در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد با استفاده از دستگاه جذب اتمی شیماتزو در طول موج ۵۲۰ تا ۵۶۰ نانومتر قرائت شد (AOAC, 1995; Williams, 1972).

بررسی حلالیت منابع سولفات، آلی و هیدروکسی کلراید منگنز در اسید سیتریک، اسید کلریدریک و آب دو بار تقطیر

انجام این آزمایش با استفاده از دستورالعمل واتسون و همکاران بود (Watson *et al*.,1970). برای انجام این آزمایش ابتدا از هرکدام از منابع، سه نمونه ۰/۱ گرمی توزین شد و در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سیتریک دو درصد و اسید هیدروکلریک ۰/۴ درصد حل شد. به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوباسیون صورت گرفت، سپس با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ بدون خاکستر صاف گردید. به‌منظور رقیق سازی با استفاده از آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید و با استفاده از دستگاه جذب اتمی میزان منگنز آن قرائت گردید. میزان منگنز محلول و نامحلول در آب دیونیزه نیز از روش لیچ و پاتون تعیین گردید (Leach and Patton, 1997). بدین منظور، ابتدا از هرکدام از منابع چهار نمونه ۰/۵ گرمی درون بالن ژوژه ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و به آن ۱۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد و به‌مدت نیم ساعت در دمای ۲۵ درجه در بن‌ماری شیک شد و سپس از کاغذ صافی شماره ۴۲ بدون خاکستر عبور داده شد و به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر با استفاده از آب دیونیزه رسید و در دستگاه جذب

اتمی در طول موج ۵۲۰-۵۶۰ نانومتر قرائت شد. کاغذ واتمن به‌دست آمده نیز به درون کوره با دمای ۵۵۰ درجه به‌مدت ۱۶ ساعت منتقل گردید. پس از به‌دست آمدن خاکستر به آن پنج میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید اضافه شد و میزان منگنز نامحلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی قرائت گردید. از اعداد به‌دست آمده (غلظت منگنز در نمونه اولیه، نمونه فیلتر شده و مقدار باقی ماده روی کاغذ صافی) میزان حلالیت منگنز در آب دیونیزه نیز محاسبه گردید.

تعیین قابلیت جذب اشکال مختلف مواد معدنی با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده (Everted Gut Sacs)

۱۸۰ قطعه جوجه خروس یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸ از یک روزگی تا ۲۱ روزگی با جیره بر پایه ذرت و سویا و بر اساس احتیاجات توصیه شده راس ۳۰۸ (2018) تغذیه شدند. در روز ۲۲ تا روز ۲۸، جیره‌ای عاری از منگنز به آن‌ها داده شد. سپس در روز ۲۹، به‌مدت یک شبانه روز به آن‌ها گرسنگی جهت خالی کردن دستگاه گوارش داده شد. جوجه‌ها به سه تیمار با منابع هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات منگنز با شش تکرار و ۱۰ قطعه در هر تکرار دسته‌بندی شدند. سپس از هر تکرار سه قطعه به‌صورت تصادفی انتخاب شد و مراحل زیر انجام گردید (Feng *et al*., 2006).

۱- ضدعفونی کردن تمامی وسایل استفاده شده در طی انجام آزمایش با آب دو بار تقطیر و اسید نیتریک
۲- بیهوش کردن کامل پرنده با استفاده از تزریق ۱-۱/۵ میلی‌لیتر کتامین از طریق ورید بال
۳- خارج کردن دستگاه گوارش
۴- استخراج و جداسازی روده پرنده و شستشوی آن با آب دو بار تقطیر با دمای ۴۰-۳۹ درجه
۵- جداسازی ۱۰ سانتی‌متر از هرکدام از قسمت‌های ایلئوم و ژژنوم و وارونه کردن آن با استفاده از میله‌ای پلاستیکی
۶- شستشوی دوباره قطعات وارونه شده با سرم فیزیولوژیک با دمای ۴۰-۳۹ درجه
۷- وزن کردن قطعات بخش‌های مختلف جدا شده با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۱ گرم
۸- بستن یک طرف قطعات جدا شده از نقاط مختلف روده و پرکردن آن با بافر میس-کربس بدون عنصر منگنز با اسیدیته شش برای ژژنوم و بافر تریس-کربس با اسیدیته هفت برای ایلئوم به‌میزان دو میلی‌لیتر برای هرکدام و بستن طرف دیگر آن با نخ کتانی.
۹- پر کردن ظروف کوچک کدگذاری شده از بافر میس-کربسی (اسیدیته شش جهت قرار دادن ژژنوم) که در آن ۱۰۰ میلی‌گرم از منابع مختلف منگنز (آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید) حل شده باشد و همچنین آماده سازی بافر تریس-کربس (اسیدیته هفت برای ایلئوم) که در آن ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز با منابع مختلف (آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید) حل شده بود.
۱۰- انکوباسیون ظروف در بن‌ماری شیکردار در دمای ۴۰ درجه به‌مدت ۴۵ دقیقه با میزان ۹۰ حرکت در دقیقه.
۱۱- تخلیه کامل قطعات مختلف درون ظروف کوچک شیشه‌ای و کدگذاری آن‌ها و نگهداری در دمای منفی ۲۰ درجه تا زمان آنالیز
۱۲- تعیین غلظت عنصر منگنز در مایعات سروزی موجود در شیشه با استفاده از دستگاه جذب اتمی شیماتزو در طول موج ۵۲۰ تا ۵۶۰ نانومتر (Williams, 1972).

سپس با استفاده از فرمول‌های مناسب ریاضی درصد جذب هرکدام از منابع منگنز در ایلئوم و ژژنوم مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین زیست‌فراهمی نسبی اشکال مختلف مواد معدنی با سطوح مختلف با استفاده از آزمایش رشد

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار که شامل چهار سطح متفاوت از منگنز (۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با سه منبع مختلف (هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات) انجام شد (جدول ۲ تیمارهای آزمایشی). آزمایش دارای پنج تکرار و ۱۰ قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار بود که به‌طور کلی، ۶۰۰ قطعه جوجه خروس راس ۳۰۸ در این آزمایش قرار گرفت. جیره‌ها به‌صورت آردی تهیه شد و جوجه‌ها در کل دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب و خوراک را خواهند داشت. جیره‌های آزمایشی بر اساس احتیاجات جوجه گوشتی راس ۳۰۸ (2018) در سه دوره ابتدایی، رشد و پایانی تنظیم شد. میزان غلظت منگنز هرکدام از جیره‌ها قبل و بعد از افزودن سطوح مختلف این عنصر اندازه‌گیری شد و در جدول۳ نشان داده شده است.

صفات عملکردی

افزایش وزن روزانه، میزان خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های سنی ۱۰-۱ روزگی، ۲۳-۱۱ روزگی و ۳۷-۲۴روزگی با استفاده از رکوردبرداری‌های انجام شده هر پن به‌کمک ترازوی دیجیتال با دقت یک گرم در پایان هر دوره محاسبه گردید.

سنجش سیستم ایمنی

از روش سنجش مستقیم هموآگلوتیناسیون، برای اندازه گرفتن پاسخ ایمنی (یعنی آنتی‌بادی تولید شده) بر علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) استفاده گردید (Van and Leenstra, 1980). بدین منظور، از یک گوسفند سالم خون تهیه گردید و پس از سانتریفیوژ کردن آن و شستشوی گلبول‌های قرمز با بافر سالین فسفات، گلبول‌های قرمز حاصله با استفاده از بافر سالین فسفات به

نسبت پنج درصد رقیق شد.

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه جوجه‌های گوشتی (37-1 روزگی)

Table 1- The ingredient and nutrient composition of basal diet to broiler chickens(1-37 days)

اقلام خوراکی (درصد) Ingredients (Percentage)	آغازین ۱-۱۰ روزگی Starter 1-10 days	رشد ۱۱-۲۴روزگی Grower 11-24 days	پایانی ۲۵-۳۷روزگی Finisher 25-37 days
ذرت Corn	53.20	55.88	57.25
(پروتئین خام ۴۴٪)کنجاله سویا Soybean meal (CP 44%)	38.41	34.90	33.31
گندم Wheat	2.02	2.02	2.02
روغن آفتابگردان Vegetable oil	2.08	3.60	4.10
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.30	1.10	1.04
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.65	1.40	1.31
نمک طعام Common salt	0.42	0.42	0.40
DL- متیونین DL-methionine	0.15	0.10	0.07
L- لایزین L-lysine	0.21	0.08	0.00
ترئونین Threonine	0.06	0.00	0.00
مکمل ویتامینه[1] [1]Vitamin- premix	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی بدون منگنز[2] Mineral- premix without manganese	0.25	0.25	0.25
ترکیبات شیمیایی جیره Chemical compounds of the diet			
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری بر کیلوگرم) ME (kcal/kg)	2850	2970	3020
پروتئین خام (درصد) CP (%)	22.1	20.7	19.8
کلسیم Ca (%)	1.00	0.85	0.80
فسفر قابل دسترس Available P (%)	0.47	0.42	0.39
لایزین قابل هضم (درصد) Digestible Lys (%)	1.35	1.17	1.03
متیونین قابل هضم (درصد) Digestible Met (%)	0.48	0.42	0.39
متیونین + سیستین قابل هضم (درصد) Digestible Met + Cyc (%)	1.01	0.90	0.81
ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible Thr (%)	0.89	0.78	0.70

[1] هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل: ۱۱۰۲۵ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۵۲۸ واحد بین المللی ویتامین D_3، ۳۳ واحد بین المللی ویتامین E، ۰/۹۱ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۰/۱۸ گرم ویتامین B_1، ۰/۸۲۵ گرم ویتامین B_2، ۱ گرم ویتامین B_3، ۳ گرم ویتامین B_5، ۰/۳ گرم ویتامین B_6، ۰/۱۲۵ گرم ویتامین B_9، ۰/۱۵ گرم ویتامین B_{12} و ۵۰ گرم کولین کلراید است.

[2] هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل: ۵۰ گرم آهن، ۱۱ گرم روی، ۶ گرم مس، ۱ گرم ید و ۰/۲گرم سلنیوم و بدون منگنز بود.

[1]Vitamin permix Supplied the following, per kilogram of diet: vitamin A, 11025 IU; vitamin D_3, 3528 IU; vitamin E, 33 mg; vitamin K_3, 0.91 mg; Vitamin B_1, 0.18 g; Vitamin B_2, 0.825 g; Vitamin B_3, 1.00g; Vitamin B_5, 3.00g; Vitamin B_6, 0.30g; Vitamin B_9, 0.125g; Vitamin B_{12}, 0.15g; choline chloride, 50g;

[2] Mineral permix Supplied the following per kilogram of diet: Fe (Fe-sulfate), 50g; Zn (Zn-sulfate), 11g; 110 mg; Cu (Cu-sulfate), 6g; I (calcum iodate), 1g; Se (sodum selenite), 0.2 g.without Mn.

جدول ۲- ترتیب تیمارهای آزمایشی

Table 2- The order of the experimental treatments

تیمار Treatment	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
منبع Source	منگنز آلی Organic manganese				هیدروکسی کلراید منگنز Manganese hydroxychloride				سولفات منگنز Manganese sulfate			
میلی‌گرم بر کیلوگرم mg/kg	35	70	105	140	35	70	105	140	35	70	105	140

جدول ۳– میزان منگنز اضافه شده و آنالیز شده در جیره‌های ابتدایی، رشد و پایانی (میلی‌گرم در کیلوگرم)

Table 3- The amount of manganese added and analyzed in the starter, grower and finisher diets (mg/kg)

		ابتدایی Starter	رشد Grower	پایانی Finisher
منابع منگنز Source manganese	اضافه شده Added	آنالیز شده Analyzed	آنالیز شده Analyzed	آنالیز شده Analyzed
منگنز آلی Organic manganese	35	59.14	58.63	58.91
	70	82.43	80.14	78.69
	105	124.72	123.68	116.38
	140	153.66	150.29	149.62
هیدروکسی کلراید منگنز Manganese hydroxychloride	35	48.41	47.58	48.96
	70	78.63	79.36	83.15
	105	119.16	121.20	120.28
	140	148.36	147.92	151.28
سولفات منگنز Manganese sulfate	35	37.65	39.63	38.91
	70	79.61	81.21	80.28
	105	121.13	118.63	120.25
	140	147.71	151.27	150.28

در سن ۲۲ روزگی از هر تکرار دو پرنده انتخاب شد و مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون SRBC به سینه آن تزریق شد و در سن ۲۹ روزگی پس از هفت روز اولین خون‌گیری انجام شد و مجدداً ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون SRBC به سینه مرغ‌ها تزریق شد و نهایتاً در ۳۷ روزگی خون‌گیری نهایی صورت گرفت. خون‌های جمع‌آوری شده پس از سانتریفیوژ و جداسازی سرم برای تعیین ایمونوگلوبولین‌های M و G و کل به آزمایشگاه منتقل گردید (Allahdo *et al*., 2018).

نتایج و بحث

ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی مواد مورد آزمایش می‌تواند کمک بسیاری در زمینه پیش‌بینی ارزش بیولوژیک مواد معدنی مختلف داشته باشد. درصد ماده خشک، درصد خاکستر و درصد منگنز منابع آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید منگنز در جدول چهار گزارش شده است. بیشترین مقدار ماده خشک منگنز مربوط به سولفات منگنز (۹۹/۲۳ درصد) و کمترین مربوط به هیدروکسی کلراید منگنز (۹۲/۵۸ درصد) بود. همچنین، بیشترین درصد خاکستر مربوط به هیدروکسی کلراید منگنز با ۸۶/۱۴ درصد و کمترین مربوط به منگنز آلی با ۲۱/۵۶ درصد بود. میزان منگنز محاسبه شده پس از آزمایش هرکدام از منابع آلی، هیدروکسی کلراید و سولفات به‌ترتیب برابر با ۵/۶۴، ۳۴/۶۴ و ۳۴/۴۷ درصد بود.

بررسی حلالیت مواد معدنی در حلال‌های مختلف یک روش مناسب آزمایشگاهی برای پیش‌بینی زیست‌فراهمی این منابع در بدن حیوانات است و بر اساس حلالیت نسبی نیز زیست‌فراهمی نسبی منابع منگنز قابل پیش‌بینی است (Ledoux *et al*., 1991). درصد حلالیت هرکدام از منابع مختلف منگنز در حلال‌های مختلف (آب دیونیزه، سیتریک اسید دو درصد و هیدروکلریک اسید ۰/۴ درصد) در جدول ۵ نشان داده شده است. شکل آلی منگنز بیشترین حلالیت را در سیتریک اسید دو درصد و کمترین را در آب دیونیزه به‌ترتیب با ۹۶/۱۲ و ۳۴/۱۴ درصد داشت. هیدروکسی کلراید منگنز نیز بیشترین حلالیت را در محلول دو درصد سیتریک اسید داشت، امّا سولفات منگنز بیشترین حلالیت را در هیدروکلریک اسید داشت و کمترین آن نیز در آب دیونیزه بود. به‌طور کلی، سولفات منگنز بیشترین حلالیت را در آب دیونیزه نسبت به دو منبع دیگر داشت. همچنین، بیشترین حلالیت در کل آزمایش مربوط به منگنز آلی در سیتریک اسید ۲ درصد با ۹۶/۱۲ درصد بود. در مطالعات گزارش شده است که باند شدن مواد معدنی با پروتئین‌ها، کلات ضعیفی خواهد بود و زمانی که

در حلال‌ها قرار می‌گیرند به‌راحتی کلات آن‌ها می‌شکند و در حلال حل می‌شوند (Cao *et al*.,2000). در مطالعه‌ای که بلک و همکاران (Black *et al*., 1984) انجام دادند، نشان دادند که بین حلالیت مواد معدنی و زیست‌فراهمی آن‌ها در جوجه‌ها و گوسفندها رابطه وجود دارد، امّا در مطالعه حاضر، هیچگونه ارتباطی ما بین حلالیت منبع منگنز و زیست‌فراهمی آن مشاهده نشد. در خصوص منابع آلی، حلالیت تابعی از نوع باندهای تشکیل شده است، بنابراین نتایج حلالیت می‌تواند گمراه‌کننده باشد (Li *et al*., 2011).

جدول ٤- ترکیبات شیمیایی منابع مختلف منگنز

Table 4- Chemical compositions of different manganese sources

ترکیبات شیمیایی Chemical compositions	منابع مختلف منگنز Different Manganese Sources		
	منگنز آلی Organic manganese	هیدروکسی کلراید منگنز Manganese hydroxychloride	سولفات منگنز Manganese sulfate
درصد ماده خشک Dry matter (%)	95.06	92.58	99.23
درصد خاکستر Ash (%)	21.56	86.14	82.88
درصد منگنز Manganese (%)	5.64	34.63	34.47

جدول ۵- درصد حلالیت منابع مختلف منگنز در آب دیونیزه، سیتریک اسید (دو درصد) و هیدرو کلریدریک اسید (۰/۴ درصد)

Table 5- Solubility percentage (%) of different sources of manganese in deionized water, 2% citric acid and 0.4% hydrochloric acid

منابع مختلف منگنز Different Manganese Sources	درصد حلالیت Solubility percentage (%)		
	هیدروکلریک اسید ۰/۴ درصد 0.4% hydrochloric acid	سیتریک اسید دو درصد 2% citric acid	آب دیونیزه Deionized water
منگنز آلی Organic manganese	85.82	96.12	34.13
هیدروکسی کلراید منگنز Manganese hydroxychloride	64.35	83.02	34.07
سولفات منگنز Manganese sulfate	82.46	74.99	39.31

نتایج حاصل از تکنیک قطعات وارونه روده در جدول ۶ گزارش شده است. نتایج نشان داد که بیشترین جذب منگنز در ایلئوم اتفاق می‌افتد و این نتایج همسو با نتایج سایر محققان بود که در شرایط برون تنی و درون تنی این آزمایش را انجام داده بودند (Bai *et al*., 2008). در مطالعه‌ای که مشتاقی و همکاران در سال 2006 بر روی موش‌ها انجام دادند، گزارش دادند که بیشترین جذب منگنز در دوازدهه اتفاق می‌افتد، آن‌ها گزارش کردند که جذب منگنز در دوازدهه موش‌ها به‌ترتیب ۱۲ و ۱۴ درصد بیشتر از ژژنوم و ایلئوم است (Moshtaghie *et al*., 2006). تفاوت بین گزارش‌های تحقیقاتی را می‌توان به‌دلیل سن حیوانات مورد استفاده، نوع، سویه و طول دوره آزمایش ارتباط داد. به نظر می‌رسد که محل اصلی جذب مواد معدنی ایلئوم باشد. در مطالعه‌ای که یو و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام دادند، نشان دادند که جذب روی توسط ایلئوم یک تا پنج برابر بیشتر از جذب آن در دئودنوم و ژژنوم است (Yu *et al*., 2008). در مطالعه حاضر، نتایج نشان داد که قابلیت جذب منابع مختلف منگنز در ژژنوم معنی‌دار نبود، امّا در ایلئوم معنی‌دار بود. به‌طوری‌که بیشترین قابلیت جذب مربوط به منبع آلی منگنز بود که اختلاف معنی‌داری با دو منبع هیدروکسی کلراید و سولفات داشت و اختلاف معنی‌داری بین قابلیت جذب منگنز در دو منبع هیدروکسی کلراید و سولفات وجود نداشت. جی و همکاران گزارش کردند که منابع آلی منگنز (متیونین–منگنز و آمینو اسید– منگنز) قابلیت جذب بالاتری از منبع غیر آلی در سه قسمت روده جوجه‌های گوشتی داراست (Ji *et al*., 2006). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که مواد معدنی به‌شکل آلی که با اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها پیوند تشکیل داده‌اند، قابلیت هضم بالاتری نسبت به اشکال معدنی دارند (Li *et al*., 2005)، زیرا کیلات تشکیل شده آن‌ها مانع از تشکیل کمپلکس‌های نامحلول مواد معدنی با سایر عناصر میکرو می‌گردد

(Nollet *et al*., 2007; Rubio Zapata, 2016).

جدول ٦- درصد جذب منابع مختلف منگنز در ژژنوم و ایلئوم در جوجه‌های گوشتی 29 روزه با استفاده از قطعات وارونه روده مدت ۴۵ دقیقه

Table 6- Uptake percentage (%) of Mn as each source in the everted sacs of jejunum and ileum of broilers at 29 days of age in 45 minutes

منابع مختلف منگنز Different Manganese Sources	درصد جذب Uptake percentage (%)	
	ایلئوم (درصد) Ileum (%)	ژژنوم (درصد) Jejunum (%)
منگنز آلی Organic manganese	3.25 [a]	0.702
هیدروکسی کلراید منگنز Manganese hydroxychloride	2.30 [b]	0.665
سولفات منگنز Manganese sulfate	1.99 [b]	0.560
خطای استاندارد SEM	0.1514	0.0526
سطح احتمال معنی داری P-value	0.0001	0.1754

[a-b] میانگین‌هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند.

[a-b] Means within a row with different superscripts are significantly different at the p-value indicated for ANOVA.

در جدول ۷ اثر منابع و سطوح مختلف عنصر منگنز بر صفات عملکردی در سنین مختلف جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ نشان داده شده است. میزان مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه در هیچکدام از بازه‌های زمانی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. ضریب تبدیل غذایی در سن ۲۳-۱۱ روزگی در گروه تغذیه شده با ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در سنین دیگر، اثر معنی‌داری از ضریب تبدیل غذایی مشاهده نشد. گزارش‌های مربوط به اثرات منگنز بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی متناقض است. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که مکمل‌های غذایی با اشکال مختلف منگنز مانند منگنز پروپیونات (Brooks *et al.*, 201)، منگنز کلات شده با پروتئین (Li *et al.*, 2004)، اکسید منگنز (Olgun, 2017)، سولفات منگنز (Lu *et al.*, 2006)، فومارات منگنز (Berta *et al.*, 2004)، یا کیلات اسید آمینه- منگنز (Pacheco *et al.*, 2017) به‌طور قابل توجهی بر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تأثیری نداشت. با این حال، منگ و همکاران (Meng *et al.*, 2021) گزارش کردند که گنجاندن ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز در رژیم غذایی به‌عنوان کیلات آنالوگ متیونین هیدروکسیل منگنز می‌تواند افزایش وزن روزانه و میزان خوراک مصرفی روزانه جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشد. از طرفی، اوگنیک و همکاران گزارش دادند که رژیم غذایی حاوی ۵۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز به‌شکل نانوذرات اکسید منگنز باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی در بوقلمون‌ها شد (Ognik *et al.*, 2019). در حال حاضر، مطالعات کمی در مورد اثر هیدروکسی کلراید منگنز بر جوجه‌های گوشتی انجام شده است که نتایج آن متناقض است. کانلی و همکاران نشان داد که جیره (۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز) همراه با ۳۰ تا ۱۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز به‌شکل گزارش‌های مربوط به اثرات منگنز بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی متناقض بود (Conly *et al.*, 2012). در مطالعه‌ای که سان و همکاران در سال ۲۰۲۱ انجام دادند، نشان دادند که افزودن سطوح مختلف هیدروکسی کلراید منگنز اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی ندارد (Sun *et al.*, 2021).

جدول ۸ نشان‌دهنده اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) است. نتایج نشان داد که منابع مختلف منگنز و سطوح متنوع آن نتوانست اثر معنی‌داری بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی داشته باشند. در مطالعه‌ای که ساندر و همکاران (Sunder *et al.*, 2006) انجام دادند، اثر سطوح مختلف منگنز را بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که سطوح ۱۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز اثر معنی‌داری بر پاسخ ایمنی هومورال ندارد، امّا سطوح ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تیتر آنتی‌بادی در جوجه‌های گوشتی شد. بر اساس گزارشات، عملکرد سیستم ایمنی تابعی از اثرات ژنتیک، تغذیه و محیط است که بر همین اساس تغییر در هرکدام از آن‌ها می‌تواند بر فیزیولوژی و سیستم ایمنی اثرگذار باشد. عدم تعادل در مواد مغذی و یا انحرافات شدید در تغذیه می‌تواند ایمنی حیوان را مختل کند.

جدول ۷- اثر منابع و سطوح مختلف منگنز بر صفات عملکردی در جوجه‌های گوشتی سویه راس 308

Table 7- Effect of different sources and levels of manganese on performance traits in Ross 308 broilers

تیمار treatment	صفات عملکردی Performance traits											
	مصرف خوراک روزانه Daily feed intake				افزایش وزن روزانه Daily weight gain				ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio			
	1-10 روزگی starter	11-23 روزگی grower	24-35 روزگی finisher	1-35 روزگی total	1-10 روزگی starter	11-23 روزگی grower	24-35 روزگی finisher	1-35 روزگی Total	1-10 روزگی starter	11-23 روزگی grower	24-35 روزگی Finisher	1-35 روزگی Total
1	26.07	81.36	132.47	83.62	24.70	48.88	70.60	48.55	1.06	1.66^{ab}	1.88	1.73
2	25.95	81.97	142.00	87.88	25.76	48.58	80.50	53.77	1.01	1.69^{ab}	1.76	1.63
3	26.29	84.14	139.51	86.96	25.19	52.80	75.59	51.88	1.04	1.59^{b}	1.85	1.68
4	26.41	83.76	133.46	86.61	25.84	50.29	74.33	50.04	1.02	1.67^{b}	1.80	1.73
5	26.47	86.88	132.39	84.79	26.79	45.93	69.77	48.94	0.99	1.89^{a}	1.90	1.73
6	27.80	85.21	137.43	88.14	27.60	52.54	72.58	52.85	1.01	1.62^{b}	1.89	1.67
7	26.89	81.50	137.82	85.34	27.04	50.34	70.66	49.82	0.99	1.62^{b}	1.95	1.71
8	26.94	84.89	135.48	86.97	25.60	46.84	76.37	51.69	1.05	1.81^{ab}	1.77	1.68
9	26.17	82.19	139.84	87.92	26.41	46.13	78.07	51.74	0.99	1.78^{ab}	1.79	1.70
10	24.99	81.90	134.92	85.76	25.91	47.52	66.03	47.96	0.96	1.72^{ab}	2.04	1.79
11	27.80	84.45	133.38	84.52	25.82	47.24	70.58	48.23	1.08	1.79^{ab}	1.89	1.75
12	25.21	81.15	131.46	84.83	26.03	49.19	78.03	51.95	0.97	1.65^{ab}	1.68	1.63
خطای استاندارد SEM	0.749	1.541	2.830	1.001	0.639	1.645	3.308	1.856	0.015	0.027	0.042	0.027
	سطح احتمال معنی‌داری P-value											
کل Total	0.2362	0.1827	0.1765	0.6779	0.2307	0.0559	0.1137	0.3853	0.1545	0.0057	0.1722	0.6345
منبع Source	0.1443	0.1090	0.6212	0.8830	0.1870	0.0895	0.4463	0.6855	0.9313	0.0590	0.5988	0.7399
سطح Level	0.5048	0.9863	0.2012	0.5729	0.2463	0.1161	0.4561	0.5653	0.0870	0.0461	0.0798	0.7378
منبع×سطح Level×source	0.2435	0.1075	0.1359	0.4282	0.3375	0.1438	0.0480	0.1861	0.1657	0.0195	0.2607	0.3412
خطی Linear	0.7632	0.9422	0.4541	0.9251	0.0461	0.1679	0.2702	0.5490	0.0462	0.1117	0.1519	0.4278
درجه دوم Quadratic	0.3495	0.8431	0.0473	0.5251	0.7905	0.0445	0.3319	0.8040	0.2910	0.0191	0.0332	0.8580
درجه سوم Cubic	0.2444	0.7573	0.7636	0.2121	0.8908	0.9921	0.5070	0.2079	0.2071	0.7614	0.6154	0.4443

[a-b] میانگین‌هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند.

تیمار ۱تا ۴ : به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع آلی

تیمار ۵ تا ۸: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید

تیمار ۹ تا ۱۲: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع سولفات

[a-b]Means within a row with different superscripts are significantly different at the p-value indicated for ANOVA.

Treatments 1 to 4: containing 35, 70, 105 and 140 mg/kg of manganese with an organic source, respectively.

Treatment 5 to 8: including 35, 70, 105 and 140 mg/1 manganese with hydroxy chloride source, respectively.

Treatment 9 to 12: including 35, 70, 105 and 140 mg of manganese oil with sulfate source, respectively.

جدول ۸- تأثیر منابع و سطوح مختلف منگنز بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) جوجه‌های گوشتی (سن 29 و 35 روزگی)

Table 8- The effect of different sources and levels of manganese on the primary and secondary response of antibody titers against sheep red blood cells (SRBC) of broilers (29 and35 days age)

تیمار Treatment	منابع و سطوح مختلف منگنز Different sources and levels of manganese					
	تزریق اول First injection (mg/dl)			تزریق دوم Second injection (mg/dl)		
	IgM1	IgG1	Total Ig1	IgM2	IgG2	Total Ig2
1	3.6	3.4	7.0	3.4	3.6	7.0
2	3.2	4.0	7.2	2.8	3.2	6.0
3	4.6	4.0	8.6	3.0	2.2	5.2
4	4.0	4.4	8.4	2.8	4.0	6.8
5	2.6	5.2	7.8	4.0	2.6	6.6
6	4.0	3.6	7.6	2.2	2.2	4.4
7	4.4	5.0	9.4	1.8	3.4	5.2
8	3.8	4.2	8.0	2.4	2.4	4.8
9	3.4	5.2	8.6	2.8	3.0	5.8
10	3.8	4.6	8.4	2.4	3.8	6.2
11	3.6	3.8	7.4	2.0	2.0	4.0
12	3.6	3.8	7.4	2.6	2.2	4.8
خطای استاندارد SEM	0.7036	0.8236	0.551	0.6610	0.8631	0.8935
	احتمال سطح معنی‌داری P-value					
کل Total	0.8472	0.8502	0.2821	0.6017	0.7607	0.3322
منبع Source	0.8802	0.6238	0.2160	0.4823	0.5778	0.6859
سطح level	0.3876	0.8617	0.6779	0.1801	0.8574	0.0468
سطح×منبع Source×level	0.8213	0.6160	0.1954	0.8447	0.4940	0.7354
خطی Liner	0.2051	0.5752	0.6750	0.1341	0.6134	0.1269
درجه دوم Quadratic	0.2914	0.6759	0.2546	0.1034	0.7395	0.2255
درجه سوم Cubic	0.5745	0.6182	0.8887	0.9072	0.5329	0.1808

تیمار ۱تا ۴ : به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع آلی

تیمار ۵ تا ۸: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید

تیمار ۹ تا ۱۲: به‌ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع سولفات

Treatments 1 to 4: containing 35, 70, 105 and 140 mg/kg of manganese with an organic source, respectively.

Treatment 5 to 8: including 35, 70, 105 and 40 mg/1 manganese with hydroxy chloride source, respectively.

Treatment 9 to 12: including 35, 70, 105 and 140 mg of manganese oil with sulfate source, respectively.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین حلالیت فرم آلی منگنز در سیتریک اسید دو درصد و کمترین آن در آب دیونیزه با ۹۶/۱۲ و ۳۴/۱۳ بود. منبع هیدروکسی کلراید منگنز نیز بیشترین حلالیت را در سیتریک اسید دو درصد داشت و سولفات منگنز بیشترین حلالیت آن در هیدروکلریک اسید ۰/۴ درصد بود. به‌طور کلی، بیشترین حلالیت منگنز در هیدروکلریک اسید و کمترین در آب دیونیزه بود. با توجه به اعداد به‌دست آمده در تکنیک قطعات وارونه روده مشخص گردید که بیشترین جذب منگنز در ایلئوم می‌باشد. در بین تیمارهای آزمایشی، بیشترین جذب روده‌ای مربوط به منبع آلی منگنز و کمترین آن مربوط به‌شکل سولفات به‌ترتیب ۳/۲۵ و ۱/۹۹ درصد بود. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی (افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی)

در کل دوره آزمایش نداشت. همچنین منابع و سطوح مختلـف منگنـز اثری بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتـر آنتی‌بـادی علیـه گلبول‌هـای قرمـز گوسفندی (SRBC) نشان نداد. باتوجه به داده‌های به‌دست آمـده از حلالیت منگنز در حلال‌های مختلف و قطعات وارونه روده اسـتفاده از منگنز آلی (۱۰۵ میلی‌گرم در کیلـوگرم) بـه‌دلیل ارزش جـذب بـالا در جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

از هیأت مدیره و بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا که در انجام این پژوهش مواد اولیه آزمایشـی را تأمین کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Allahdo, P., Ghodraty, J., Zarghi, H., Saadatfar, Z., Kermanshahi, H., & Edalatian Dovom, M. R. (2018). Effect of probiotic and vinegar on growth performance, meat yields, immune responses, and small intestine morphology of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, *17*(3), 675-685. https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1424570
2. AOAC. (1995). Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
   Bai, S. P., Lu, L., Luo, X. G., & Liu, B. (2008). Kinetics of manganese absorption in ligated small intestinal segments of broilers. *Poultry Science*, *87*(12), 2596-2604. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00117.
3. Berta, E., Andrásofszky, E., Bersényi, A., Glávits, R., Gáspárdy, A., & Fekete, S. G. (2004). Effect of inorganic and organic manganese supplementation on the performance and tissue manganese content of broiler chicks. *Acta Veterinaria Hungarica*, *52*(2), 199-209. https://doi.org/10.1556/avet.52.2004.2.8.
4. Black, J. R., Ammerman, C. B., Henry, P. R., & Miles, R. D. (1984). Biological availability of manganese sources and effects of high dietary manganese on tissue mineral composition of broiler-type chicks. *Poultry Science*, *63*(10), 1999-2006. https://doi.org/10.3382/ps.0631999 .
5. Brooks, M. A., Grimes, J. L., Lloyd, K. E., Valdez, F., & Spears, J. W. (2012). Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. *Journal of Applied Poultry Research*, *21*(1), 126-130. https://doi.org/10.3382/japr.2011-00331.
6. Cao, J., Henry, P. R., Guo, R., Holwerda, R. A., Toth, J. P., Littell, R. C., & Ammerman, C. B. (2000). Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of Animal Science*, *78*(8), 2039-2054. https://doi.org/10.2527/2000.7882039x .
7. Conly, A. K., Poureslami, R., Koutsos, E. A., Batal, A. B., Jung, B., Beckstead, R., & Peterson, D. G. (2012). Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poultry Science*, *91*(7), 1633-1640. https://doi.org/10.3382/ps.2011-02056.
8. EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP). (2016). Safety and efficacy of manganese hydroxychloride as feed additive for all animal species. *EFSA Journal*, *14*(5), e04474. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4474.
9. Feng, Ji, Luo, X.G. Lu, L., Liu, B., & Yu, S.X. (2006). Effects of manganese source and calcium on manganese uptake by *in vitro* everted gut sacs of broiler's intestinal segments. *Poultry Science*, *85*, 1217–1225. https://doi.org/10.1093/ps/85.7.1217.
10. Halpin, K. M., Chausow, D. G., & Baker, D. H. (1986). Efficiency of manganese absorption in chicks fed corn-soy and casein diets. *The Journal of Nutrition*, *116*(9), 1747-1751. https://doi.org/10.1093/jn/116.9.1747.
11. Hassan, S., Hassan, F. U., & Rehman, M. S. U. (2020). Nano-particles of trace minerals in poultry nutrition: Potential applications and future prospects. *Biological Trace Element Research*, *195*, 591-612. https://doi.org/10.1007/s12011-019-01862-9.
12. Jasek, A., Coufal, C. D., Parr, T. M., & Lee, J. T. (2019). Evaluation of increasing manganese hydroxychloride level on male broiler growth performance and tibia strength. *Journal of Applied Poultry Research*, *28*(4), 1039-1047. https://doi.org/10.3382/japr/pfz065.
13. Jasek, A., Parr, T., Coufal, C. D., & Lee, J. T. (2020). Research note: Evaluation of manganese hydroxychloride in 45-wk-old white leghorn layers using yolk and shell manganese content. *Poultry Science*, *99*(2), 1084-1087. https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.022.
14. Ji, F., Luo, X. G., Lu, L., Liu, B., & Yu, S. Y. (2006). Effects of manganese source on manganese absorption by the intestine of broilers. *Poultry Science*, *85*, 1947-1952. https://doi.org/10.1093/ps/85.11.1947.
15. Kerkaert, H. R., Woodworth, J. C., DeRouchey, J. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., Goodband, R. D., & Manzke, N. E. (2020). Determining the effects of manganese source and level in diets containing high levels of copper on growth performance of growing-finishing pigs. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, *6*(10), 19. https://doi.org/10.4148/2378-5977.8000.
16. Leach, G. A., & Patton R.S. (1997). Analysis techniques for chelated minerals evaluated. *Feedstuffs*. 69, 13-15.
17. Ledoux, D. R., Henry, P. R., Ammerman, C. B., Rao, P. V., & Miles, R. D. (1991). Estimation of the relative bioavailability of inorganic copper sources for chicks using tissue uptake of copper. *Journal of Animal*

Science, *69*(1), 215-222. https://doi.org/10.2527/1991.691215x.
18. Li, S., Luo, X. G., Lu, L., Crenshaw, T. D., Bu, Y. Q., Liu, B., Kuang, X., Shao, G. Z. & Yu, S. X. (2005). Bioavailability of organic manganese sources in broilers fed high dietary calcium. *Animal Feed Science Technology*, *123*, 703-715. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.052..
19. Li, S., Lu, L., Hao, S., Wang, Y., Zhang, L., Liu, S., & Luo, X. (2011). Dietary manganese modulates expression of the manganese-containing superoxide dismutase gene in chickens. *The Journal of Nutrition*, *141*(2), 189-194. https://doi.org/10.3945/jn.110.126680.
20. Li, S., Luo, X., Liu, B., Crenshaw, T. D., Kuang, X., Shao, G., & Yu, S. (2004). Use of chemical characteristics to predict the relative bioavailability of supplemental organic manganese sources for broilers. *Journal of Animal Science*, *82*(8), 2352-2363. https://doi.org/10.2527/2004.8282352x.
21. Lu, L., Ji, C., Luo, X. G., Liu, B., & Yu, S. X. (2006). The effect of supplemental manganese in broiler diets on abdominal fat deposition and meat quality. *Animal Feed Science and Technology*, *129*(1-2), 49-59. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.12.005.
22. Meng, T., Gao, L., Xie, C., Xiang, Y., Huang, Y., Zhang, Y., & Wu, X. (2021). Manganese methionine hydroxy analog chelated affects growth performance, trace element deposition and expression of related transporters of broilers. *Animal Nutrition*, *7*(2), 481-487. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.09.005.
23. Moshtaghie, A. A., Badii, A. A., & Hassanzadeh, T. (2006). Investigation of manganese and iron absorption by rat everted gut sac. *Pakistan Journal Biological Science*. *9*, 1346-1349. https://doi: 10.3923/pjbs.2006.1346.1349.
24. Mwangi, S., Timmons, J., Ao, T., Paul, M., Macalintal, L., Pescatore, A., & Dawson, K. A. (2019). Effect of manganese preconditioning and replacing inorganic manganese with organic manganese on performance of male broiler chicks. *Poultry science*, *98*(5), 2105-2113. https://doi.org/10.3382/ps/pey564.
25. National Research Council. (1994). Nutrient requirements of poultry. National Academies Press.
26. Nollet, L., Van der klis, J., Lensing, M., & Spring P. (2007). The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *Journal Apply Poultry Research*, *16*, 592-597. https://doi.org/10.3382/japr.2006-00115.
27. Ognik, K., Kozłowski, K., Stępniowska, A., Szłązak, R., Tutaj, K., Zduńczyk, Z., & Jankowski, J. (2019). The effect of manganese nanoparticles on performance, redox reactions and epigenetic changes in turkey tissues. *Animal*, *13*(6), 1137-1144. https://doi.org/10.1017/S1751731118002653.
28. Olgun, O. (2017). Manganese in poultry nutrition and its effect on performance and eggshell quality. *World's Poultry Science Journal*, *73*(1), 45-56. https://doi.org/10.1017/S0043933916000891.
29. Pacheco, B. H. C., Nakagi, V. D. S., Kobashigawa, E. H., Caniatto, A. R. D. M., & Faria, D. E. D. (2017). Dietary levels of zinc and manganese on the performance of broilers between 1 to 42 days of age. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *19*, 171-178. https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0323.
30. Pan, S., Zhang, K., Ding, X., Wang, J., Peng, H., Zeng, Q., & Bai, S. (2018). Effect of high dietary manganese on the immune responses of broilers following oral *Salmonella typhimurium* inoculation. *Biological Trace Element Research*, *181*, 347-360. https://doi.org/10.1007/s12011-017-1060-9.
31. Patra, A., & Lalhriatpuii, M. (2020). Progress and prospect of essential mineral nanoparticles in poultry nutrition and feeding—A review. *Biological Trace Element Research*, *197*(1), 233-253. https://doi.org/10.1007/s12011-019-01959-1.
32. Rubio Zapata, N. K. (2016). Effect of increasing levels of dietary zinc (Zn), manganese (Mn), and copper (Cu) from organic and inorganic sources on egg quality and egg Zn, Mn, and Cu content in laying hens. M.Sc., Louisiana State Univ. Zamorano.
33. Spears, J. W. (2019). Boron, chromium, manganese, and nickel in agricultural animal production. *Biological Trace Element Research*, *188*(1), 35-44. https://doi.org/10.1007/s12011-018-1529-1.
34. Sun, Y., Geng, S., Yuan, T., Liu, Y., Zhang, Y., Di, Y., & Zhang, L. (2021). Effects of manganese hydroxychloride on growth performance, antioxidant capacity, Tibia parameters and manganese deposition of broilers. *Animals*, *11*(12), 3470. https://doi.org/10.3390/ani11123470.
35. Sunder, G. S., Panda, A. K., Gopinath, N. C., Raju, M. V., Rao, S. V. R., & Kumar, C. V. (2006). Effect of supplemental manganese on mineral uptake by tissues and immune response in broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, *43*(4), 371-377. https://doi.org/10.2141/jpsa.43.371.
36. Tufarelli, V., & Laudadio, V. (2017). Manganese and its role in poultry nutrition: an overview. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, *5*(6), 749-754. https://doi: 10.18006/2017.5(6).749.754.
37. Van der Zijpp, A., & Leenstra, F. (1980). Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks. *Poultry Science 59*(7): 1363-1369. https://doi.org/10.3382/ps.0591363.
38. Wang, C., Guan, Y., Lv, M., Zhang, R., Guo, Z., Wei, X., & Jiang, Z. (2018). Manganese increases the sensitivity of the cGAS-STING pathway for double-stranded DNA and is required for the host defense against DNA viruses. *Immunity*, *48*(4), 675-687.
39. Wang, F., Lu, L., Li, S., Liu, S., Zhang, L., Yao, J., & Luo, X. (2012). Relative bioavailability of manganese proteinate for broilers fed a conventional corn–soybean meal diet. *Biological Trace Element Research*, *146*, 181-

186. https://doi.org/10.1007/s12011-011-9238-z.
40. Wang, Y. S., Zhang, J. P., & Gang, Y. (2011). Solubility and phase diagrams of hydroxyl manganese chloride. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, *21*(5), 1136-1140. https://doi.org/10.1016/S1003-6326(11)60833-9.
41. Watson, L. T., Ammerman, C. B., Miller, S. M., & Harms, R. H. (1970). Biological assay of inorganic manganese for chicks. *Poultry Science*, *49*(6), 1548-1554. https://doi.org/10.3382/ps.0491548.
42. Williams, T. R. (1972). Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry (Perkin-Elmer Corp).
43. Yenice, E., Mızrak, C., Gültekin, M., Atik, Z., & Tunca, M. (2015). Effects of organic and inorganic forms of manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-phase laying hens. *Biological Trace Element Research*, *167*, 300-307. https://doi.org/10.1007/s12011-015-0313-8.
44. Yu, Y., Lu, L., Luo, X. G. & Liu, B. (2008). Kinetics of zinc absorption by *in situ* ligated intestinal loops of broilers involved in zinc transporters. *Poultry Science*, *87*, 1146-1155. https://doi.org/10.3382/ps.2007-00430.